

UNIVERZA V NOVI GORICI
VISOKA ŠOLA ZA VINOGRADNIŠTVO IN VINARSTVO

**PRIMERJAVA MED REDČENJEM GROZDJJA IN
ZGODNJIM RAZLISTANJEM: VPLIV NA PRIDELEK IN
OSNOVNE PARAMETRE KAKOVOSTI TER
POLIFENOLNO SESTAVO GROZDJJA PRI SORTI
'REFOŠK'
(*V. vinifera*)**

DIPLOMSKO DELO

Mitja TURK

Mentorja: doc. dr. Branka Mozetič Vodopivec
doc. dr. Paolo Sivilotti

Nova Gorica, 2014

ZAHVALA

Zahvalil bi se mentorjema doc. dr. Branki Mozetič Vodopivec ter doc. dr. Paolu Sivilottiju za mentorstvo ter strokovno pomoč pri praktičnem in teoretičnem delu diplomske naloge.

Zahvala gre tudi Borisu Lisjaku, ki je omogočil izvajanje poskusa v njegovem vinogradu.

Prav tako se zahvaljujem projektu AGROTUR, v okviru katerega sem lahko izdelal diplomsko nalož.

Hvala tudi vsem ostalim, ki so mi kakorkoli nudili pomoč.

POVZETEK

Z ustreznim uravnavanjem razmerja med listno površino in količino pridelka lahko bistveno vplivamo na razvoj in končno kakovost grozdja. Vinogradniki to razmerje največkrat uravnavajo s pomočjo redčenja grozdja v vinogradu. V zadnjih letih se v vinogradništvu uveljavlja tudi druga, novejša vinogradniška tehnologija, s katero lahko posredno vplivamo na omenjeno razmerje; to je odstranjevanje listov v območju grozdja pred cvetenjem (razlistanje pred cvetenjem). V diplomski nalogi so predstavljeni rezultati poskusa, ki smo ga izvedli na sorti 'Refošk' (*Vitis vinifera L.*) letnika 2012 v vinorodnem okolišu Kras (vinorodna dežela Primorska). V poskus smo vključili tri obravnave: kontrolno obravnavanje (brez tretiranj), redčenje grozdja v faziobarvanja jagod (veraison) ter razlistanje pred cvetenjem. Tekom sezone smo pri vseh obravnanjih spremljali listno površino glavnih listov in zalistnikov, osnovne kakovostne parametre dozorevanja grozdja in vsebnost fenolov, ob trgovci pa smo določili tudi količino pridelka. Obe vinogradniški tehnologiji, tako zgodnje razlistanje kot tudi redčenje grozdja sta občutno zmanjšali količino pridelka. Prva je povzročila zmanjšanje mase grozdov, z redčenjem grozdja pa smo dosegli manj grozdov na trs. Redčenje grozdov je v primerjavi s tehniko zgodnjega razlistanja pozitivno vplivalo na nalaganje sladkorjev v grozdnji jagodi in na koncentracijo izlužljivih antocianinov ob trgovci. Ob uporabi metode z močnejšo ekstrakcijo polifenolnih spojin iz kožic in pečk grozdja smo razkrili večji polifenolni potencial grozdja v primeru ukrepa zgodnjega razlistanja v primerjavi z ukrepom redčenja grozdja. Naši rezultati nakazujejo, da lahko tako z zgodnjim razlistanjem kot tudi redčenjem grozdja dosežemo povečanje vsebnosti polifenolov v grozdju sorte 'Refošk' in s tem izboljšamo povezano kakovost grozdja.

Ključne besede: razlistanje v območju grozdja pred cvetenjem, redčenje grozdja, antociani, tanini, *Vitis vinifera L.* cv. 'Refošk'

SUMMARY

Canopy-to-crop ratio represents an important topic that affects grape production and its quality. Thus, winegrowers normally adopt cluster thinning in order to match a good equilibrium, but in the last years another technique could help to obtain the same result – the removal of leaves in a pre-flowering stage. The experiment presented in diploma thesis was carried out in 2012 on ‘Refošk’ cultivar from Primorska wine region, wine district Kras, where three treatments were compared: untreated control, cluster thinning performed at veraison and pre-flowering leaf removal. During the season main and lateral leaf area was monitored and during maturation grape samples were collected to follow grape maturation and at harvest time yield parameters as well. Both early leaf removal and cluster thinning revealed to be significantly reducing grape production, since lower weight of the clusters was found in case of the former treatment and reduced number of clusters as regard the latter treatment. The results of quality parameters on the first sight revealed the best performance of cluster thinning (when compared to early leaf removal), since sugars were enhanced but also extractable anthocyanins were found higher in their concentration. On the other hand, a further analysis of the same compounds using a stronger extraction revealed the higher polyphenolic potential of the grapes obtained with preflowering leaf removal in comparison to cluster thinning treatment. Summarising the results, both pre-flowering leaf removal and cluster thinning provided evidence to be useful techniques in order to increase the concentration of polyphenols in the berries leading to a better (connected) quality of the grapes.

Key words: pre-flowering leaf removal, cluster thinning, anthocyanins, tannins, *Vitis vinifera* L. cv. ‘Refošk’,

KAZALO VSEBINE

1	Uvod	1
1.1	Hipoteza	1
2	TEORETIČNE OSNOVE.....	3
2.1	Odstranjevanje listov v območju grozdja	3
2.1.1	Zgodnje odstranjevanje listov	4
2.2	Redčenje grozdja	5
2.3	Polifenoli.....	6
2.4	<i>Vitis vinifera L. 'Refošk'</i>	7
3	EKSPERIMENTALNI DEL.....	8
3.1	Materiali.....	8
3.1.1	Zasnova poskusa v vinogradu	8
3.2	Metode	9
3.2.1	Določanje mase pridelka	9
3.2.2	Določanje listne površine	10
3.2.3	Določanje vodnega potenciala.....	11
3.2.4	Določanje mase 100 jagod, vsebnost suhe snovi, pH vrednost in vsebnost skupnih titrabilnih kislin	13
3.2.5	Določanje fenolov po Glories (1978)	14
3.2.6	Določanje skupnih antocianinov in nizkomolekularnih ter visokomolekularnih procianidinov (taninov)	15
4	Rezultati in razprava	16
4.1	Število grozdov, masa pridelka in masa grozda.....	16
4.2	Listna površina.....	16
4.3	Vodni potencial	20
4.4	Masa 100 jagod, vsebnost suhe snovi, vsebnost skupnih titrabilnih kislin in pH vrednost	21
4.5	Vsebnost skupnih antocianinov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov v kožicah in pečkah grozdnih jagod	23
4.6	Vsebnost fenolov po Glories: skupni antocianini, skupni izlužljivi antocianini, indeks skupnih fenolov in delež taninov iz pečk (%)	24
5	Zaključki.....	27
6	Viri	29

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Zasnova poskusa v vinogradu.	9
Tabela 2: Vodni status vinske trte in listni vodni potencial, merjen pred zoro (Deloire in sod., 2004)	12
Tabela 3: Vpliv redčenja grozdov in vpliv razlistanja pred cvetenjem na število grozdov, maso pridelka in maso grozda sorte ‘Refošk’ (povprečne vrednosti in standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	16
Tabela 4: Vpliv redčenja grozdov in razlistanja pred cvetenjem na listno površino in razmerje med skupno listno površino in maso pridelka pri sorti ‘Refošk’ (podatki listne površine za dan 28. 9. 2012) (povprečje in standardna napaka znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	19
Tabela 5: Vpliv redčenja grozdov in razlistanja pred cvetenjem na vsebnost polifenolov v jagodni kožici in grozdnih pečkah (prikazane so povprečne vrednosti in standardni odkloni, ki so izračunani na podlagi RSD (%)) uporabljene metode).	23

SEZNAM SLIK

Slika 1: Razlistanje pred cvetenjem (Foto: Mitja Turk, 2012)	4
Slika 3: Redčenje grozdja (Foto: Mitja Turk, 2012).....	6
Slika 4: Grozd sorte ‘Refošk’ (Refosk..., 2013)	7
Slika 5: Poskusni vinograd v Dutovljah (Foto: Paolo Sivilotti, 2012)	8
Slika 6: Regresija med površino lista in dolžino lista (dolžina glavnih žil).....	10
Slika 7: Korelacija med številom listov na mladiku in površino listov na mladiku (glavni listi v rdeči barvi in zalistniki v modri barvi)	11
Slika 8: Schollanderjeva komora za merjenje vodnega potenciala rastline (Foto: Anastazija Jež, 2012)	12
Slika 9: Listi vinske trte v aluminjasti foliji pred meritvijo (Foto: Anastazija Jež, 2012)	13
Slika 10: Povprečna listna površina dne 25.5.2012; A: povprečna listna površina glavnih listov pred zgodnjim razlistanjem; B: povprečna listna površina glavnih listov po zgodnjem razlistanju; C: povprečna listna površina zalistnikov; D: povprečna skupna listna površina pred zgodnjim razlistanjem; E: povprečna skupna listna površina po zgodnjem razlistanju (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	17
Slika 11: Povprečna listna površina (A: glavnih listov, B: zalistnikov, C: skupna listna površina) dne 28. 9. 2012 (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	18
Slika 12: Povprečne vrednosti vodnega potenciala. Posamezne črke označujejo datum meritve (v oklepaju): A (12. 7. 2012), B (2. 8. 2012), C (7. 9. 2012) (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	21
Slika 13: Spreminjanje mase 100 jagod, vsebnosti skupnih titrabilnih kislin (v g vinske kisline/l), vsebnosti suhe snovi (°Brix) in pH vrednosti grozdnega soka med dozorevanjem (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelk enako obravnavanih vzorcev, n = 4).	22
Slika 14: Parametri določanja fenolov po Glories med dozorevanjem: skupni antocianini (mg/L), izlužljivi antocianini (mg/L), indeks skupnih fenolov in delež taninov iz pečk (%) (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (prikazani standardni odkloni so izračunani na podlagi RSD (%) uporabljene metode).	25

X

1 UVOD

Ustrezno ravnovesje med listno površino in količino pridelka lahko bistveno vpliva na razvoj in končno kakovost grozdja. Vinogradniki to razmerje največkrat uravnavajo s pomočjo redčenja grozdja v vinogradu (Guidioni in sod., 2002). V zadnjih letih pa se v vinogradništvu uveljavlja tudi druga, novejša vinogradniška tehnologija (ampelotehnični ukrep), s katero lahko posredno vplivamo na omenjeno razmerje; to je odstranjevanje listov v območju grozdja pred cvetenjem (razlistanje pred cvetenjem oz. zgodnje razlistanje). Z razlistanjem pred cvetenjem lahko pride namreč do manj zbitega, lažjega grozda in s tem manjše količine pridelka po trsu (Caspari in sod., 1998; Poni in sod., 2009).

Vplivi redčenja grozdja in razlistanja pred cvetenjem na razvoj in kakovost grozdja sorte 'Refošk' (*Vitis vinifera L.*) z vinorodnega okoliša Kras (vinorodna dežela Primorska) še niso poznani. Trta sorte 'Refošk' je zelo bujna in obilno rodi, grozdje vsebuje veliko polifenolov, še posebej tistih iz skupine antocianinov (Plahuta in Korošec-Koruza, 2009). Žal pa ta sorta ni znana po veliki vsebnosti taninov, ki so pomembni pri staranju vina (Vanzo in sod., 2012).

S diplomskim delom smo želeli preveriti vpliv dveh vinogradniških tehnologij (zgodnje razlistanje in redčenje grozdja) na osnovne kakovostne in količinske parametre ter polifenolno sestavo grozdja sorte 'Refošk' letnika 2012 v izbranem vinogradu vinorodnega okoliša Kras (vinorodna dežela Primorska). V diplomske nalogi smo primerjali oba ukrepa med seboj, pa tudi s kontrolnim obravnavanjem, pri katerem nismo redčili grozdja, niti odstranili listov pred cvetenjem.

1.1 Hipoteza

Domnevamo, da bomo z razlistanjem pred cvetenjem in redčenjem grozdja vplivali na osnovne kakovostne parametre grozdja kot so vsebnost suhe snovi (sladkorna stopnja), vsebnost skupnih titrabilnih kislin (kot vinska kislina g/L) ter pH vrednost in na

nekatere količinske parametre grozdja sorte ‘Refošk’ kot so masa 100 jagod, število grozdov na trs, masa grozda in masa pridelka na trs.

Pričakujemo tudi, da bomo z redčenjem grozdja in razlistanjem pred cvetenjem vplivali na količino in razmerje med posameznimi skupinami polifenolov v grozdju sorte ‘Refošk’.

2 TEORETIČNE OSNOVE

2.1 Odstranjevanje listov v območju grozdja

Odstranjevanje listov v območju grozdja (razlistanje oz. defoliacija) je razširjena vinogradniška tehnologija s katero vinogradniki vplivajo na potek dozorevanja grozdja in zmanjšajo tveganje za pojav mikrobioloških okužb grozdja (Smart, 1985). Z razlistanjem lahko vplivamo tudi na kakovostne parametre grozdja. Poleg mesta razlistanja, je čas v katerem izvedemo ta ukrep pomemben faktor končnega uspeha (Tardáguila in sod., 2008). Običajno poteka razlistanje med fenofazo oploditve jagod in fenofazo začetka dozorevanja jagod (Poni in sod., 2006).

Razlistanje zelo zaprtih trsov v fazi obarvanja jagod lahko izboljša mikroklimo v grmu vinske trte in osvetljenost jagod med dozorevanjem. Zaradi boljše osvetlitve se lahko v jagodah poveča vsebnost suhe snovi (sladkorna stopnja) in zmanjša vsebnost skupnih titrabilnih kislin in jabolčne kisline (Caspari in sod., 2008; Percival in sod., 1994; Poni in sod., 2006). Zelo zaprti trsi imajo manjšo propustnost za svetlobo, kar pa lahko negativno vpliva na biosintezo sekundarnih metabolitov kot so antocianini (Bavaresco in sod., 2008; Dokoozlian in Kliewer, 1996; Halsegrove in sod., 2000; Spayd in sod., 2002).

Grozdnje jagode, ki so bolj izpostavljene soncu (tudi zaradi razlistanja) imajo lahko večje vsebnosti antocianinov (Kliewer in Smart, 1989; Reynolds in Wardle, 1989). Z večjo osvetljenostjo pa lahko predvsem v toplejših področjih prihaja tudi do previsokih temperatur na površini grozdnih jagod, s čimer lahko povzročimo zaviranje kopičenja antocianinov (Spayd in sod. 2002).

Biosinteza antocianinov grozdja ni odvisna le od sončne svetlobe (Downey in sod., 2004), ampak tudi od temperature kožice, ki naj bi imela po mnenju Spayd in sod. (2002) celo večji vpliv na nalaganje antocianinov kot svetloba. Učinka temperature in količine sončnega obsevanja na kopičenje antocianinov pa sta odvisna tudi od sorte grozdja (Downey in sod., 2004; Spayd in sod., 2002).

2.1.1 ZGODNJE ODSTRANJEVANJE LISTOV

Zgodnje odstranjevanje listov (zgodnje razlistanje) je nov in inovativen vinogradniški ukrep, ki se izvaja v fenofazi pred cvetenjem vinske trte (Poni in sod., 2006; 2009). Z razlistanjem pred cvetenjem ustvarimo pogoje, kjer rastlina razvije manj nastavkov za grozdne jagode in s tem pride do manj zbitega grozda in tudi manjše količine pridelka (Caspari in sod., 1998; Poni in sod, 2009). Ta ampelotehnični ukrep ima lahko tudi pozitivne vplive na kemijsko sestavo grozdne jagode (večja sladkorna stopnja, manjša vsebnost jabolčne kisline in tudi manj skupnih titrabilnih kislin) (Poni in sod., 2006; 2009).

Zgodnje razlistanje povzroči tudi pospešeno rast zalistnikov. Lahko povzroči tudi blago zakasnitev pri razvoju grozdnih jagod, ki pa v polni zrelosti dosežejo enako velikost kot grozdne jagode nerazlistanih trt (Chorti in sod., 2010). Poni in sod. (2009) poročajo o pozitivnih vplivih zgodnjega razlistanja na maso kožice grozdnih jagod in s tem večje koncentracije antocianinov.



Slika 1: Razlistanje pred cvetenjem (Foto: Mitja Turk, 2012)

Ker na rezultate razlistanja vpliva tako čas izvedbe, kot tudi genotip, podnebje in pa razmerje med odstranjenimi in preostalimi listi (Zoecklein in sod., 1992), je posploševanje literaturnih podatkov, ki temeljijo na samo nekaj sortah in izbranih pogojih rasti neustrezno in je priporočljivo pred uvajanjem te vinogradniške tehnologije na določenem področju in sorti le-to najprej preizkusiti in v kolikor je možno ukrep tudi ponoviti v večih sezonzah.

Zgodnje odstranjevanje listov se lahko izvaja tudi strojno z napravo, ki se imenuje defoliator ali odstranjevalec listov.

2.2 Redčenje grozdja

Redčenje grozdja ima dandanes v vinogradništvu velik pomen. Velik rodni potencial novih selekcij vinske trte, dobra oskrba tal s hranili in boljši ukrepi varstva vinske trte pogosto vodijo v prevelike nastavke grozdja in s tem večje količine pridelka slabše kakovosti. Če želimo imeti pridelek dobre kakovosti v okviru zakonskih priporočil pridelave grozdja, je takšno uravnavanje priporočljivo predvsem pri:

- izjemno rodnih sortah;
- sortah z velikimi grozdi;
- v mladih vinogradih in
- pri močnih nastavkih.

Z redčenjem grozdja lahko izboljšamo njegovo kakovost in posledično tudi pozitivno vplivamo na življensko dobo vinograda (Vršič in Lešnik, 2010).

Vršič in Lešnik (2010) predlagata, da pri redčenju grozdja na dobro razvitih mladikah pustimo dva grozda, na slabše razvitih pa samo enega, ali na vseh mladikah samo enega. Odstranimo slabo razvite grozde in tiste, ki so v notranjosti trsa zelo skupaj.

Redčenje grozdja lahko povzroči hitrejše zorenje grozdja, večje koncentracije antocianinov in vsebnosti suhe snovi v zrelem grozdju (Guidoni in sod., 2002; 2008).

Sivilotti in Lavrenčič (2010) razlagata, da lahko pri redčenju grozdov pride do povečanja kopičenja fenolov posredno s pospeševanjem zorenja grozdja ali pa neposredno - zaradi povečane listne površine. Tudi Vršič in Lešnik (2010) sta mnenja,

da pri redčenju grozdov takšno grozdje vsebuje več polifenolov zaradi manjšega števila grozdov oz. obremenitve po trti in večjega razmerja med listno površino in maso pridelka.



Slika 2: Redčenje grozdja (Foto: Mitja Turk, 2012)

2.3 Polifenoli

Polifenoli so ena najbolj zastopanih skupin sekundarnih metabolitov rastlin in so pomembni za kakovost grozdja in vina. Vplivajo na stabilnost in senzorične lastnosti vina. Senzorično so odgovorni za rdečo barvo (antocianini), okus grenkobe (nizkomolekularni proantocianidini – nizkomolekularni tanini grozdja) in zaznavo trpkosti (visokomolekularni proantocianidini – visokomolekularni tanini grozdja). Polifenoli imajo pomemben vpliv tudi na stabilnost in staranje (zorenje) vina. Poleg vpliva na kakovost vina, so pomembni tudi za človekovo zdravje kot antioksidanti. Flavonoidi predstavljajo glavnino polifenolov rdečega vina, nahajajo se predvsem v kožicah in pečkah grozdne jagode. Tekom alkoholne fermentacije se sladkor pretvarja v alkohol, ki je dobro topilo za ekstrakcijo flavonoidov predvsem iz pečk grozdne jagode. Najbolj zastopani skupini flavonoidov rdečega vina sta flavanoli in antocianini. Flavanoli zajemajo enostavne monomerne spojine (catechine, epicatechine, itd.) in tudi monomerne enote, povezane v nizko in visokomolekularne proantocianidine. Oboji se

nahajajo v kožicah in pečkah grozdne jagode. Antocianini so rdeča barvila, ki se pri *Vitis vinifera* L. nahajajo le v kožici grozdne jagode. Med staranjem vina se povezujejo s proantocianidini v barvila višjih molekulskih mas in tako se ohranja (povečuje obstojnost) barve vina. Na količino, profil in razporeditev fenolnih spojin v grozdju in kasneje v vinu vplivajo: sorta (kot najpomembnejši dejavnik), klimatske značilnosti letnika, vinogradniška in vinarska tehnologija ter lokacija vinogradov (Vanzo in sod., 2012).

2.4 *Vitis vinifera* L. ‘Refošk’

Uspeva v vseh štirih okoliših vinorodne dežele Primorska. V vinorodnem okolišu Kras iz te sorte pridelujejo vino Teran. Sorta ima okrogel, precej velik in običajno tridelen list. Grozdi so veliki, široki, težki do 250 g. Trta je zelo bujna in obilno rodi. Prilagodi se različnim vrstam tal, tudi zahtevnim lapornatim in težjim ilovnatim tlom. Raje uspeva na zračnih, bogatih tleh, na sončnih legah. Sorta je poznana tudi po veliki vsebnosti fenolnih spojin, še posebej antocianinov (Plahuta in Korošec-Koruza, 2009).



Slika 3: Grozd sorte ‘Refošk’ (Refosk..., 2013)

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Materiali

3.1.1 ZASNOVA POSKUSA V VINOGRADU

Poskus je potekal v vinogradu na območju Dutovlj (vinorodna dežela Primorska, vinorodni okoliš Kras). V vinogradu sorte ‘Refošk’ je medtrsna razdalja 0,9 m, medvrstna razdalja 2,50 m (4444 trt/hektar), vzgojna oblika je enošparonski Guyot. Trte so stare 6 let in cepljene na podlago 420 A (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*).



Slika 4: Poskusni vinograd v Dutovljah (Foto: Paolo Sivilotti, 2012)

Poskus je bil zastavljen naključno na izbranih trtah z štirimi ponovitvami za vsako obravnavanje, pri čemer smo vsako obravnavanje ponovili 4-krat ($n = 4$).

Poskus smo zasnovali tako, da smo po naključnem sistemu izbrali 12 blokov na obravnavanje s štirimi trtami na blok (skupaj torej 48 trt v poskusu). Obravnavani bloki so bili naključno razdeljeni v treh vrstah (glej Tabelo 1), začetne in končne trte so bile izključene iz obravnavanja. Iz poskusa smo prav tako izločili vse trse, ki niso bili primerni za obravnavanje (manj razviti, bolni, ... itd.).

Na označenih trtah smo izvedli naslednje ukrepe:

- kontrolna skupina (**K**);
- razlistanje pred cvetenjem (25. 5. 2012) (odstranitev prvih 4 do 5 bazalnih listov na vsaki trtni mladiki) (**D**);
- redčenje grozja v fenofazi obarvanja jagod (2. 8. 2012) (odstranitev drugega grozda na vsaki trtni mladiki) (**R**).

Tabela 1: Zasnova poskusa v vinogradu.

Vrsta 1		■					■					■												
Vrsta 2			■					■				■												
Vrsta 3				■					■				■									■		

■ Kontrolni vzorec (K)
 ■ Razlistanje pred cvetenjem (D)
 ■ Redčenje grozja (R)

3.2 Metode

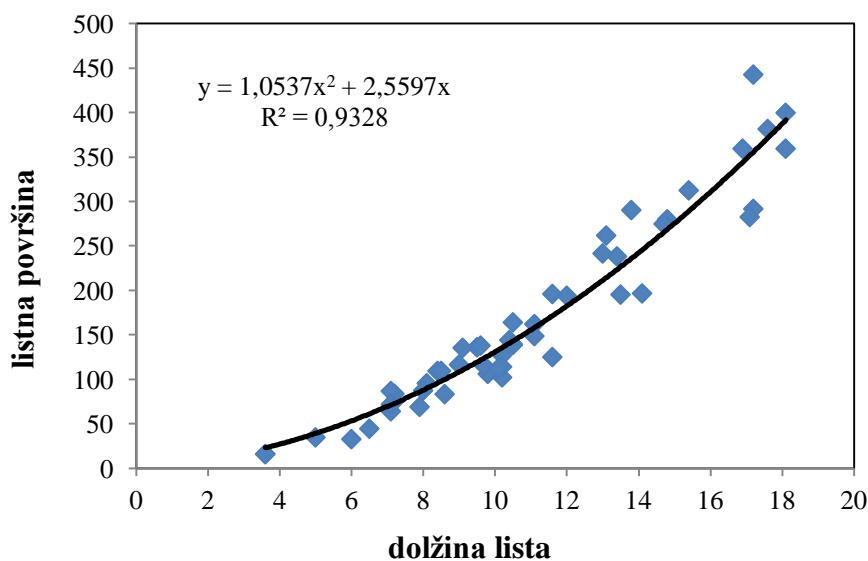
3.2.1 DOLOČANJE MASE PRIDELKA

Ob trgatvi (28.9.2012) smo opravili meritve mase pridelka in števila grozdov na posamezno trto. Iz vsake trte tretiranja smo ločeno potrgali grozdje in ga dali v vedro. Vedro s grozjem smo postavili na prenosno elektronsko tehnicco KERN DE36K10NL in odčitali maso grozja (kg). Iz pridobljenih podatkov smo izračunali povprečno maso pridelka na trto v posameznem obravanavanju.

3.2.2 DOLOČANJE LISTNE POVRŠINE

V poskusu smo določili tudi listno površino, pri čemer smo glavne liste ločili od zalistnikov. Meritve smo opravili v času razlistanja pred cvetenjem (25. 5. 2012; pred in po razlistanju – za oceno deleža listov, ki so bili odstranjeni) in ob trgovci (28.9.2013).

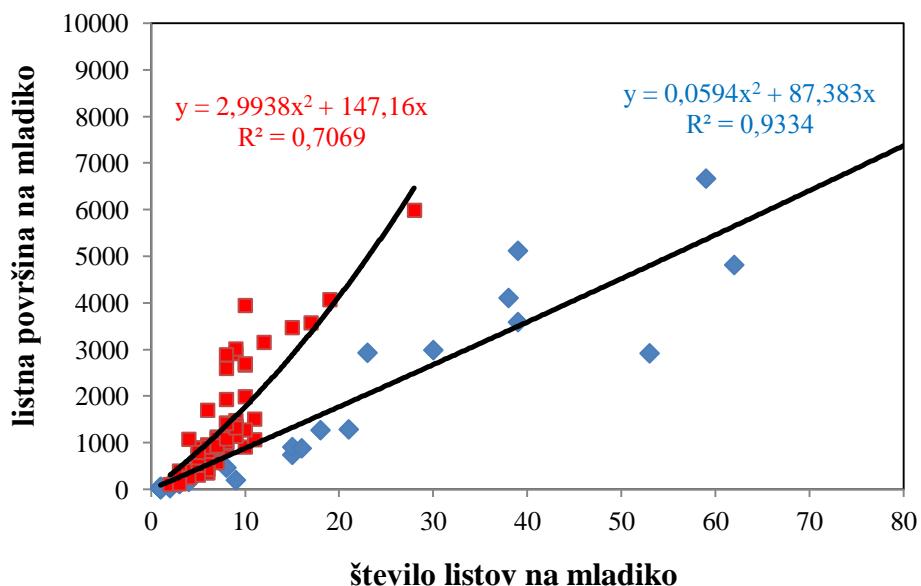
Vzorec 50-ih listov različnih oblik smo naključno povzorčili, na vsakem listu smo izmerili dolžino glavne žile (dolžina lista) in ocenili površino s skeniranjem in obdelavo podatkov (binarizacija) s pomočjo programa ImageJ (softonic®, Barcellona, Spain). Med površino in dolžino glavne žile smo izračunali in izrisali regresijsko krivuljo (polinomska regresija, program Microsoft Excel), ki je prikazana na sliki 6.



Slika 5: Regresija med površino lista in dolžino lista (dolžina glavnih žil)

Med vzorčenjem listov smo ločeno zbirali podatke za glavne in stranske liste, da smo lahko nato določili relativen delež le-teh. Na vsakem trsu smo ločili tudi mladike, da smo določili še drugo razmerje in sicer razmerje/korelacijo med številom listov na mladiko in velikostjo listne površine. Pri vsaki ponovitvi smo na enem trsu izmerili dolžine vseh listov, na ostalih dveh ponovitvah pa smo liste le prešteli in ločili glavne liste in zalistnike na vsaki mladiki. S podatki, pridobljenimi na enem trsu na ponovitev

(skupno 12 trsov), pa smo dobili še drugo regresijo in sicer regresijo med številom listov na mladiko in listno površino na mladiko kot nam prikazuje slika 7.



**Slika 6: Korelacija med številom listov na mladiko in površino listov na mladiku
(glavni listi v rdeči barvi in zalistniki v modri barvi)**

S pomočjo enačb, ki so prikazane na sliki 7 smo izračunali listno površino listom, ki smo jih samo prešteli (za glavne liste enačba, ki pripada rdečim točkam, za zalistnike pa tista, ki pripada modrim točkam). V primeru odstranjevanja listov pred cvetenjem smo listno površino prvih štirih listov, ki so bili odstranjeni izračunali - ocenili z uporabo regresijske enačbe, ki je prikazana na sliki 7.

3.2.3 DOLOČANJE VODNEGA POTENCIALA

Vodni potencial v rastlini je vedno negativen (depresija) zaradi transpiracije. Ko rastlina začuti vodni stres, vodni potencial pada (postaja bolj negativen) (Tabela 2). Liste trte ovijemo v aluminjasto folijo in tako simuliramo razmere, ki se dogajajo rastlini ponoči. Takrat se zaprejo listne reže in zunanji pritisk se izenači s pritiskom v mladiki (vodni

potencial peclja). Za pravilno merjenje morajo biti listi trte v aluminjasti foliji vsaj 1 uro (Chone in sod., 2001).

Tabela 2: Vodni status vinske trte in listni vodni potencial, merjen pred zoro (Deloire in sod., 2004)

Listni vodni potencial merjen pred zoro	Vodni status vinske trte
$0 \text{ MPa} \geq \Psi \geq -0,5 \text{ MPa}$	brez vodnega stresa ozziroma blag stres
$-0,5 \text{ MPa} > \Psi \geq -0,8 \text{ Mpa}$	blag do zmeren vodni stres
$-0,8 \text{ MPa} > \Psi \geq -1,1 \text{ Mpa}$	zmeren do močan vodni stres
$-1,1 \text{ MPa} > \Psi$	močan vodni stres

Po 1 uri v aluminjasti foliji odrežemo list skupaj s pecljem, ga damo v komoro (to moramo storiti čim bolj hitro), zapremo komoro in spustimo pritisk v komoro. Ko se pritisk v komori izenači s pritiskom v peclju lista začne voda pritekati iz peclja in takrat odčitamo na merilcu vrednost tlaka (MPa).

V našem poskusu smo v vsakem bloku 4 trt (ena paralelka) izmerili vodni potencial trem listom. Imeli smo 12 blokov, torej smo izmerili vodni potencial 36 listom.



Slika 7: Schollanderjeva komora za merjenje vodnega potenciala rastline (Foto: Anastazija Jež, 2012)



Slika 8: Listi vinske trte v aluminjasti foliji pred meritvijo (Foto: Anastazija Jež, 2012)

3.2.4 DOLOČANJE MASE 100 JAGOD, VSEBNOST SUHE SNOVI, PH VREDNOST IN VSEBNOST SKUPNIH TITRABILNIH KISLIN

Te parametre grozja smo spremljali med dozorevanjem in sicer: 14.8., 28.8., 12.9. ter 28.9.2012. Vse meritve so bile izvedene na dan vzorčenja.

Iz posameznih blokov smo iz štirih trt vzorčili pet grozdov (eno vzorčenje na ponovitev ukrepa: 4 x 5 grozdov/ukrep). Iz teh petih grozdov smo odbrali 100 grozdnih jagod (4 x 100 jagod na ukrep), jih stehtali (Kern 440-47N) in stisnili. S stiskanjem smo dobili grozdn Sok, v katerem smo določili vsebnost suhe snovi (sladkorna stopnja) v °Brix, vsebnost skupnih titrabilnih kislin (izraženih kot g vinske kisline/l) in pH vrednost. Sladkorno stopnjo izraženo v °Brix smo izmerili z digitalnim refraktometrom (Atago WM-7), vsebnost skupnih titrabilnih kislin in pH-vrednost pa z avtomatskim titratorjem (Titrino 848, Mettler Toledo). Rezultate smo prikazali kot povprečje 4-ih bioloških paralelk ($n = 4$).

3.2.5 DOLOČANJE FENOLOV PO GLORIES (1978)

Te parametre grozdja smo spremljali med dozorevanjem in sicer: 14.8., 28.8., 12.9. ter 28.9.2012. Za vsak ampelotehnični ukrep v poskusu (K, D, R) smo pripravili vzorec 200 grozdnih jagod (iz vseh ponovitev obravnavanj smo pripravili en vzorec) in jih shranili v zamrzovalniku pri - 20 °C. Iz tako pripravljenega vzorca smo pripravili homogeno kašo, ki smo jo izpostavili izluževanju (ekstrakciji) s postopkom po Glories (1978) za določanje fenolne zrelosti grozdja. V okviru tega postopka smo 25 g homogenata zmešali s 25 ml raztopine pH 1,0 (0,1 M HCl) in nadaljnih 25 g homogenata pa z 25 ml raztopine s pH 3,2 (5 g vinske kisline in 22 g NaOH v 1 l deionizirane vode). Po štirih urah izluževanja smo raztopine homogenatov v raztopinah pH 1,0 in pH 3,2 prefiltrirali preko gaze in 0,45µm PTFE filtra. Postopek izluževanja v obe raztopini smo na vzorcu 200 jagod ponovili samo enkrat.

Filtrate smo izpostavili spektrofotometričnim meritvam (spektrofotometer Shimatzu) absorbance pri valovni dolžini 280 nm za določitev vsebnosti skupnih fenolov (indeks skupnih fenolov), meritvam absorbance pri valovni dolžini 520 nm pa za določanje vsebnosti skupnih in izlužljivih antocianinov ter deleža taninov iz pečk glede na skupne fenole (%)(Glories, 1978).

Pri podajanju varabilnosti dobljenih rezultatov smo uporabili povprečno relativno standardno deviacijo (RSD) določanja indeksa skupnih fenolov (RSD 7,6 %), skupnih antocianinov (RSD 4,3 %), izlužljivih antocianinov (RSD 4,0 %) in deleža taninov iz pečk glede na skupne fenole (%) (RSD 13,1 %) 18-ih vzorcev grozdja sorte 'Refošk' letnika 2011 (18 vinogradov iz vinorodnega okoliša Kras, neobjavljeni podatki), pri čemer je bil vsak vzorec vinograda izpostavljen opisani metodi za določanje izbranih parametrov trikrat. Standardni odkloni določenih vrednosti posameznih parametrov analize po Glories so bili izračunani po naslednji formuli:

$$\text{standardni odklon} = (\text{določena vrednost parametra} * \% \text{ RSD}) / 100.$$

3.2.6 DOLOČANJE SKUPNIH ANTOCIANINOV IN NIZKOMOLEKULARNIH TER VISOKOMOLEKULARNIH PROCIANIDINOV (TANINOV)

V času trgatve smo vzporedno pripravili tudi vzorec 200 g vzorec jagod (tako kot v podpopoglju 3.2.5 iz vseh ponovitev obravnavanj), iz katerega smo pripravili selektivne ekstrakte polifenolov kožic in pečk grozdnih jagod. Uporabljena je bila metoda ekstrakcije, katere namen je simulacija vinifikacijskih pogojev v laboratoriju (Mattivi in sod., 2002). Iz kožic in pečk 200 naključno izbranih jagod smo izluževali fenolne spojine 5 dni pri 30 °C v raztopino vode in etanola (88:12 = v/v), ki je vsebovala 100 mg/L SO₂, 5 g/L vinske kisline in je imela pH vrednost 3.2. Tako pripravljene vzorčke smo prepahali z dušikom in shranili na 4 °C do spektrofotometričnih analiz, s katerimi so bile določene vsebnosti skupnih antocianinov ter procianidinov oz. taninov z nizko molekulsko maso (LMWP – Low Molecular Weight Proanthocyanidins) (vanillin indeks) in procianidinov oz. taninov z visoko molekulsko maso (HMWP – High Molecular Weight Proanthocyanidins) (Bath-Smith) pod optimiziranimi pogoji (Rigo in sod., 2000).

V skladu z Mattivi in sod. (2002) je RSD določanja parametrov kot so skupni antocianini ter nizkomolekularni in visokomolekularni tanini v kožicah grozdnih jagod 8.1 %. RSD določanja nizko in visokomolekularnih taninov v grozdnih pečkah pa 13.9 %. Ker smo postopek ekstrakcije na vzorcu 200 jagod ponovili samo enkrat, smo pri podajanju variabilnosti rezultatov uporabili te vrednosti RSD. Standardni odkloni določenih vrednosti posameznih parametrov analize polifenolov so bili tako izračunani po formuli:

$$\text{standardni odklon} = (\text{določena vrednost parametra} * \% \text{ RSD}) / 100.$$

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Število grozdov, masa pridelka in masa grozda

V tabeli 3 so prikazani rezultati vpliva vinogradniške tehnologije redčenja grozdov (R) in razlistanja pred cvetenjem (D) na maso pridelka sorte ‘Refošk’. Rezultati kažejo trend manjšanja mase pridelka na trto pri obeh ampelotehničnih ukrepih v primerjavi s kontrolnimi trsi (K). V primeru redčenja grozdov (R) je bila manjša masa pridelka na trto predvsem posledica manjšega števila grozdov, medtem ko je bila pri razlistanju pred cvetenjem (D) manjša masa pridelka posledica manjše mase posameznih grozdov.

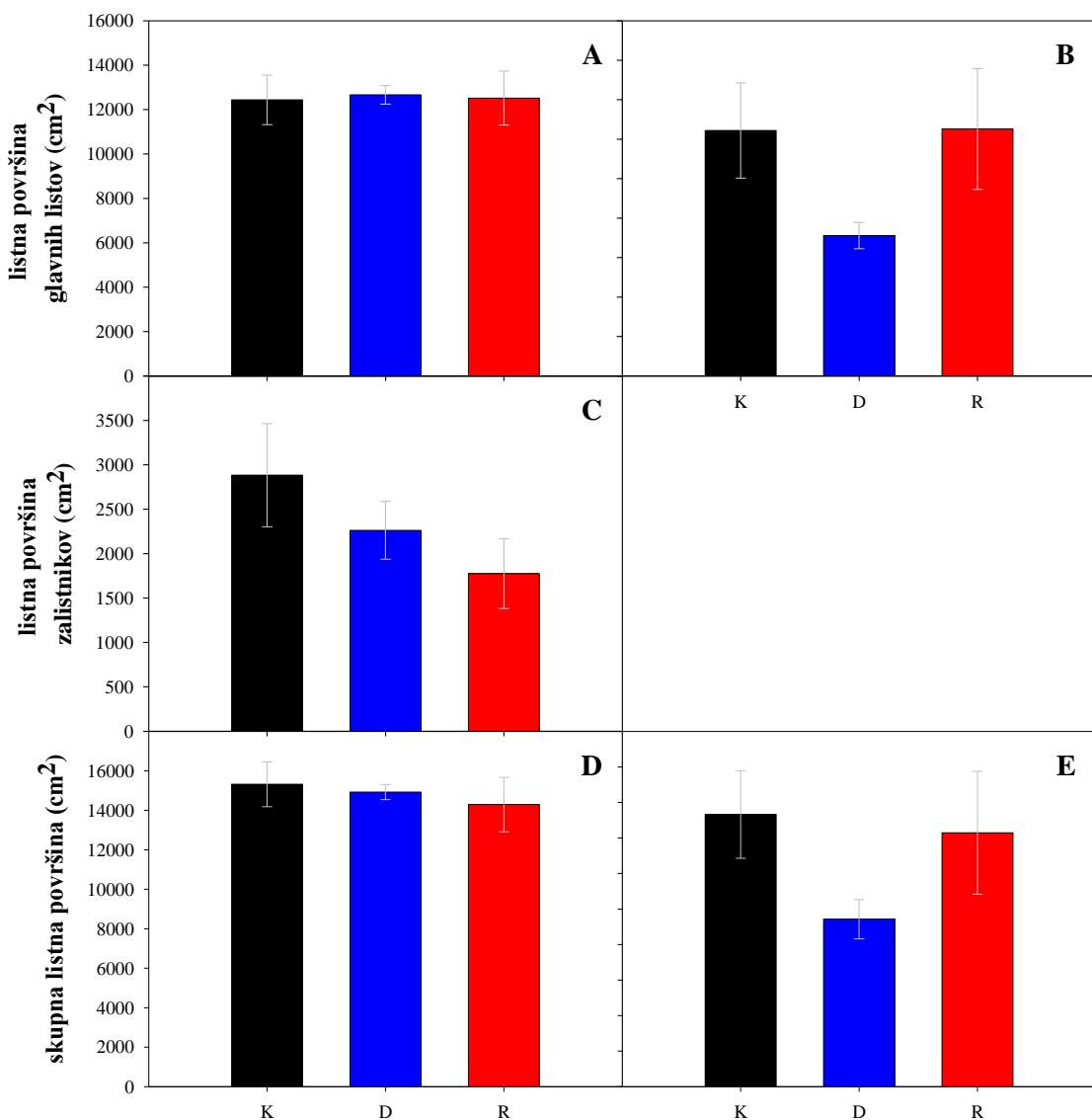
Tabela 3: Vpliv redčenja grozdov in vpliv razlistanja pred cvetenjem na število grozdov, maso pridelka in maso grozda sorte ‘Refošk’ (povprečne vrednosti in standardne napake znotraj posameznih bioloških paralel enako obravnavanih vzorcev, n = 4).

Tretiranje	Število grozdov	Masa pridelka (kg/trta)	Povprečna masa grozda (g)
K	14,6 ± 1,03	4,30 ± 0,51	292 ± 28,7
D	15,2 ± 2,03	2,59 ± 0,22	187 ± 18,0
R	9,67 ± 0,54	2,57 ± 0,15	269 ± 12,8

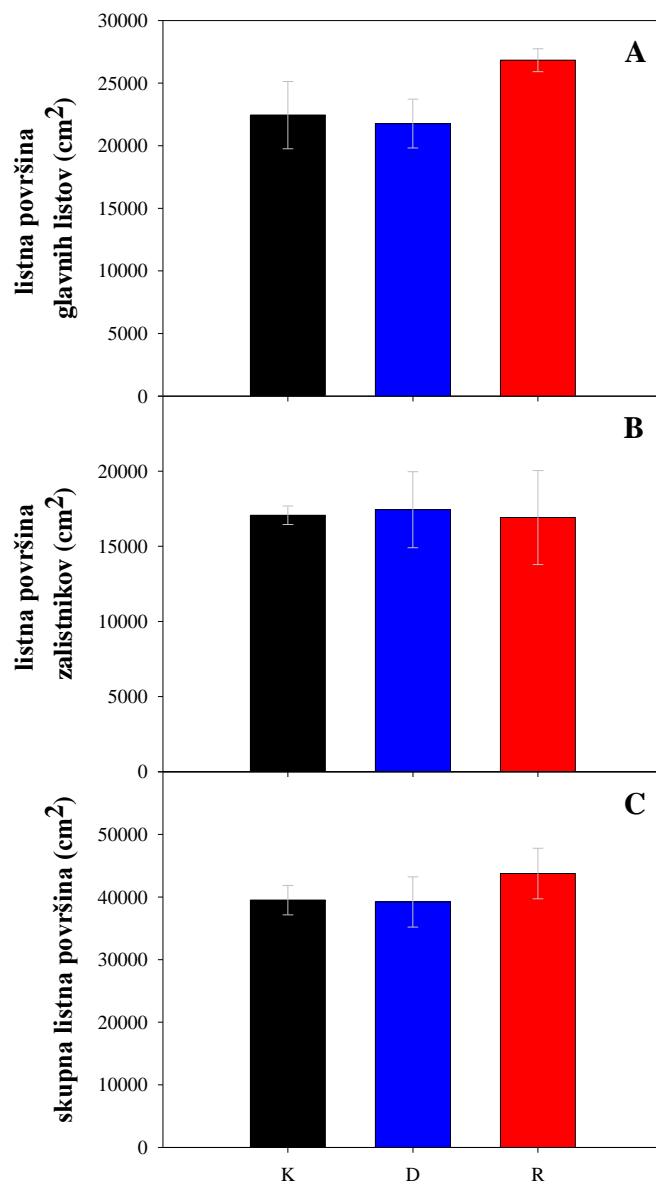
(K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje)

4.2 Listna površina

Na sliki 10 so prikazane vrednosti listnih površin glavnih listov, listne površine zalistnikov in skupne listne površine (glavni listi in zalistniki skupaj) izmerjene 25. 5. 2012 (pred in po razlistanju). Slike 10A, 10C in 10D kažejo enako začetno stanje listne površine glavnih listov in zalistnikov ter skupne listne površine pred razlistanjem pri vseh ukrepih K, D in R. Iz podatkov na slikah 10B in 10E in dejstvu, da zalistnikov nismo odstranjevali, lahko sklepamo, da smo v postopku razlistanja pred cvetenjem (ukrep D) v povprečju odstranili 38 % listne površine glavnih listov.



Slika 9: Povprečna listna površina dne 25.5.2012; A: povprečna listna površina glavnih listov pred zgodnjim razlistanjem; B: povprečna listna površina glavnih listov po zgodnjem razlistanju; C: povprečna listna površina zalistnikov; D: povprečna skupna listna površina pred zgodnjim razlistanjem; E: povprečna skupna listna površina po zgodnjem razlistanju (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev, n = 4).



Slika 10: Povprečna listna površina (A: glavnih listov, B: zalistnikov, C: skupna listna površina) dne 28. 9. 2012 (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralelek enako obravnavanih vzorcev, n = 4).

Na sliki 11 je prikazana listna površina glavnih listov, zalistnikov in skupne listne površine (zalistniki in glavni listi skupaj) ob trgovci, 28. 9. 2012. Rezultati ne kažejo razlik med ukrepi, kljub temu, da smo maja 2012 pri trtah ukrepa D v povprečju

odstranili 38 % listne površine glavnih listov (slika 10). To pomeni, da se je le-ta v obdobju do trgatve v celoti nadomestila.

V skladu z literaturo je odziv trte na razlistanje pred cvetenjem takojšen, pri čemer začnejo le-te spodbujati rast zalistnikov (Poni in sod., 2008; Tardaguila in sod., 2008), kar pa je v nasprotju z našimi rezultati (Slika 11B: primerljiva listna površina zalistnikov pri K, D in R v času trgatve). Verjetno je suša, ki je zaznamovala letnik 2012, negativno vplivala na razvoj vegetacije. Mogoče pa je tudi, da je ukrep zgodnjega razlistanja vplival na potek rasti mladič z nastankom skrajšanih internodijev in s tem večjim številom listov na mladiču. Ker pa v poskusu tega nismo določali, so to lahko le domneve in bi za potrditev teh sklepov morali poskus ponoviti in izvesti ustrezne analize.

Tabela 4: Vpliv redčenja grozdov in razlistanja pred cvetenjem na listno površino in razmerje med skupno listno površino in maso pridelka pri sorti ‘Refošk’ (podatki listne površine za dan 28. 9. 2012) (povprečje in standardna napaka znotraj posameznih bioloških paralel enako obravnavanih vzorcev, $n = 4$).

Ukrep	Glavni listi (m^2)	Zalistniki (m^2)	Skupna listna površina (m^2)	LA / Y ¹ (m^2/kg)
K	$2,24 \pm 0,78$	$1,71 \pm 0,53$	$3,95 \pm 1,08$	$1,22 \pm 0,64$
D	$2,18 \pm 0,69$	$1,74 \pm 0,73$	$3,92 \pm 1,29$	$1,46 \pm 0,73$
R	$2,68 \pm 0,55$	$1,69 \pm 0,50$	$4,37 \pm 0,89$	$1,99 \pm 0,60$

(K – kontrola, D – razlistanje, R – redčenje), LA/Y¹: razmerje med listno površino in maso pridelka

V tabeli 4 lahko vidimo razmerje med listno površino in maso pridelka. Skladno z navedbami Kliewer in Dokoozlian (2005), ki sta ugotovila optimalno razmerje listna površina/masa pridelka med 0,7 do 1,4 m^2/kg na podlagi meritev glavnih svetovnih sort, naši rezultati nakazujejo optimalno razmerje le pri kontrolnih trtah (K). Iz podatkov v tabeli 4 je očiten trend povečanja razmerja med listno površino in maso pridelka predvsem pri ukrepu redčenja grozdja (R). Če upoštevamo, da ima sorta ‘Refošk’ nadpovprečno velike površine listov in da avtohtone sorte lahko tudi izstopajo iz predlaganega razmerja med površino listov in maso pridelka po Kliewer in Dokoozlian (2005), bi lahko dejali, da je to razmerje pri ukrepu D ($1,46 \pm 0,73$) bolj na meji optimalnega kot povečanega razmerja med listno površino in maso pridelka.

Povečano razmerje med skupno listno površino in maso pridelka pri ukrepu redčenja grozdja je najverjetneje povzročilo hitrejše dozorevanje grozdja v primerjavi s kontrolnimi trsi in trsi, kjer smo izvedli ukrep zgodnjega razlistanja, kar so nakazali tudi nekateri kemijski parametri grozdja, ki bodo predstavljeni kasneje.

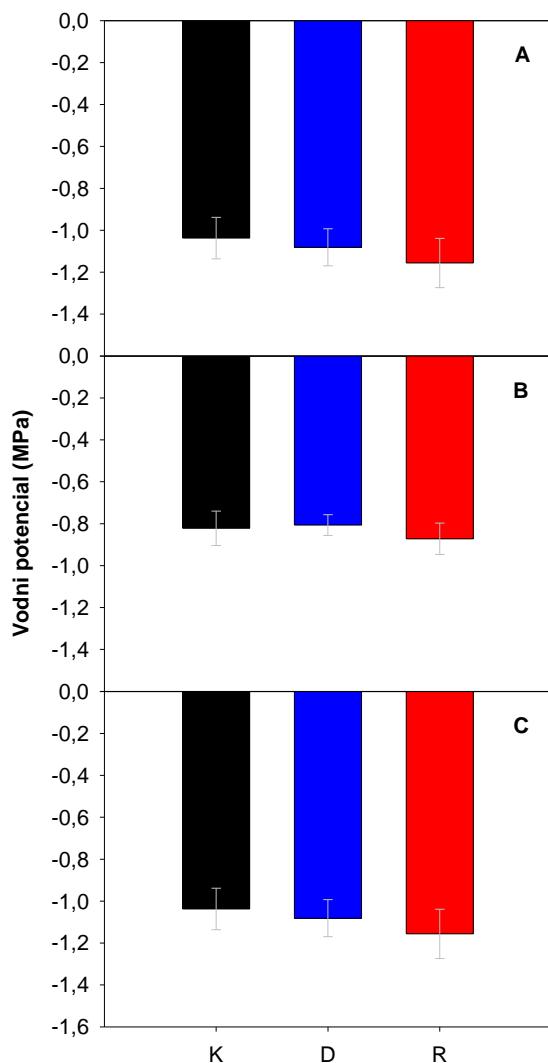
4.3 Vodni potencial

Na sliki 12 vidimo pri meritvi A (12. 7. 2012), da se povprečne vrednosti vodnega potenciala gibajo med -1,0 MPa pri kontrolni trtah (K) in ukrepu zgodnjega razlistanja (D), medtem ko je bila ta povprečna vrednost pri ukrepu redčenja grozdja (R) - 1,2 MPa. Med ukrepi nismo opazili razlik, kar pomeni, da z ampelotehničnimi ukrepi nismo vplivali na vrednosti vodnega potenciala v tem obdobju.

V času meritve B (2. 8. 2012) je bila vrednost vodnega potenciala pri vseh treh ukrepih podobna, - 0,8 MPa. Povečanje vrednosti vodnega potenciala glede na meritve A kaže na to, da se je v trtah vodni stres zmanjšal, kar je najverjetneje posledica namakanja vinograda v obdobju od prve meritve.

Septemberske (7. 9. 2012) meritve vodnega potenciala so pokazale skoraj enake rezultate kot pri prvem merjenju v začetku julija (meritev A), - 1,0 MPa pri kontrolnih trtah (K), rahlo večjo povprečno vrednost pri ukrepu razlistanja pred cvetenjem (D) in največjo povprečno vrednost pa pri ukrepu redčenja grozdja (R), - 1,2 Mpa.

Navkljub različnim povprečnim vrednostim standardne napake ne dovoljujejo sklepov o razlikah med posameznimi ampelotehničnimi ukrepi, kar ponovno potrjuje že opaženo, da ukrepa razlistanja pred cvetenjem in redčenja grozdov nista vplivala na vodni stres trt sorte 'Refošk' v poskusu.

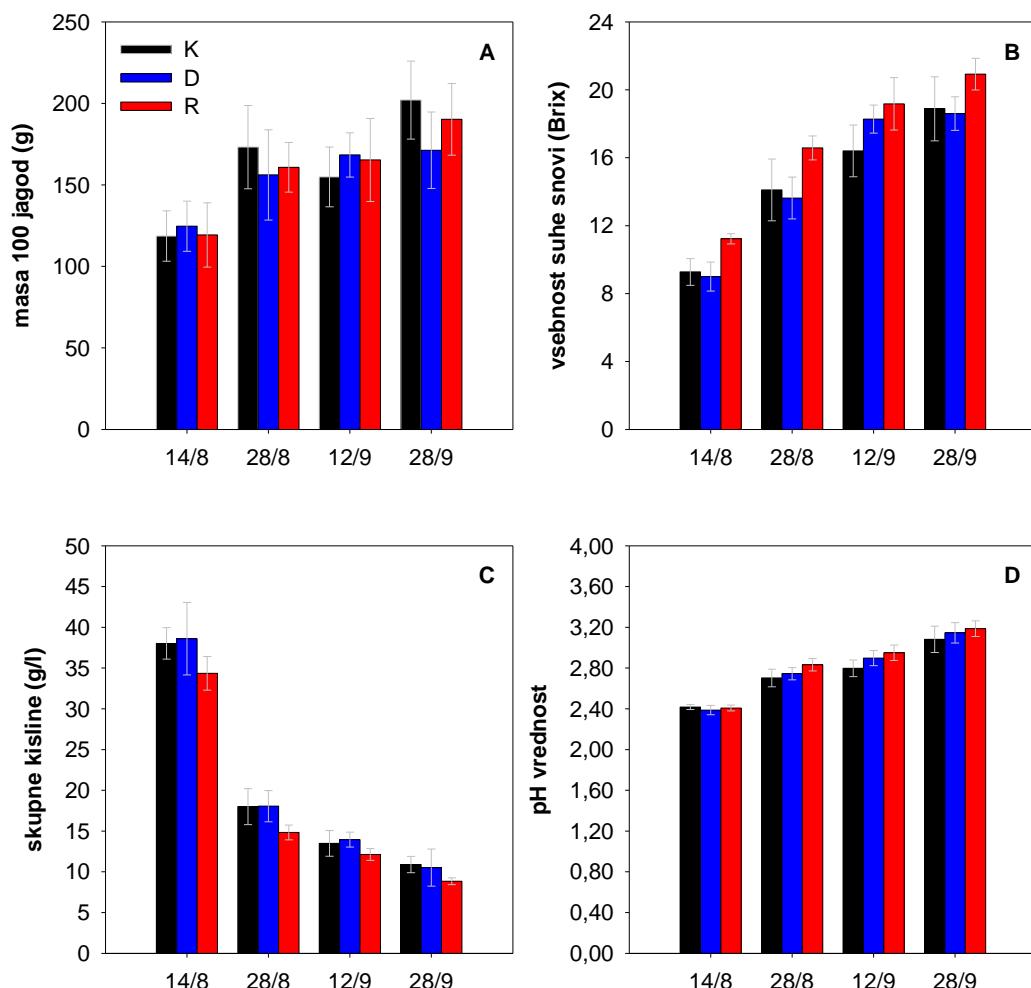


Slika 11: Povprečne vrednosti vodnega potenciala. Posamezne črke označujejo datum meritve (v oklepaju): A (12. 7. 2012), B (2. 8. 2012), C (7. 9. 2012) (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralel enako obravnavanih vzorcev, n = 4).

4.4 Masa 100 jagod, vsebnost suhe snovi, vsebnost skupnih titrabilnih kislin in pH vrednost

Na sliki 13A vidimo naraščanje mase 100 jagod med dozorevanjem. Dinamika sprememb je podobna pri vseh ukrepih brez izraženih večjih razlik, ki bi nakazovale na

različne vplive ukrepov. Opažen je sicer nekoliko manjši trend naraščanja povprečne mase 100 jagod pri ukrepu zgodnjega razlistanja (D) (tako v primerjavi z R kot tudi K), vendar, kot že povedano, standardne napake bioloških paralel ne dopuščajo nikakršnih sklepov o razlikah med ampelotehničnimi ukrepi v našem poskusu.



Slika 12: Spreminjanje mase 100 jagod, vsebnosti skupnih titrabilnih kislin (v g vinske kisline/l), vsebnosti suhe snovi (°Brix) in pH vrednosti grozdnega soka med dozorevanjem (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (na stolpcih so prikazane standardne napake znotraj posameznih bioloških paralel enako obravnavanih vzorcev, n = 4).

Ob trgovci smo pri ukrepu R (redčenje grozdja) opazili trend povečanja vsebnosti suhe snovi (°Brix), vendar le v primerjavi z ukrepom zgodnjega razlistanja in ne v primerjavi

s kontrolo, pri kateri je sladkorna stopnja tudi najbolj varirala. Največje razmerje med skupno listno površino in maso pridelka pri trsih z redčenim grozdom (Tabela 4) je najverjetneje ugodno vplivalo na kopiranje sladkorjev (vsebnost suhe snovi) v grozdju sorte 'Refošk', kar so pri drugih sortah grozda opazili tudi Guidoni in sod. (2002; 2008)

Uporabljene vinogradniške tehnologije v našem poskusu niso pokazale vpliva na vsebnost skupnih titrabilnih kislin (g vinske kisline/l) in pH vrednosti grozdnega soka. Iz slik 13C in 13D je namreč razvidna enaka dinamika sprememb med dozorevanjem ne glede na vinogradniški ukrep, ki smo ga izvedli.

4.5 Vsebnost skupnih antocianinov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov v kožicah in pečkah grozdnih jagod

Vsebnost nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov in antocianinov je bila določena na vzorcu 200 jagod, ki je predstavljal povprečen vzorec 16 trt/tretiranje.

Tabela 5: Vpliv redčenja grozdov in razlistanja pred cvetenjem na vsebnost polifenolov v jagodni kožici in grozdnih pečkah (prikazane so povprečne vrednosti in standardni odkloni, ki so izračunani na podlagi RSD (%)) uporabljeni metode).

Tretiranje	Kožice grozdne jagode (mg/kg)			Pečke grozdne jagode (mg/kg)	
	LMWP	HMWP	Skupni antociani	LMWP	HMWP
K	132 ± 11	757 ± 61	1558 ± 126	221 ± 31	170 ± 24
D	231 ± 19	1764 ± 143	2571 ± 208	661 ± 92	663 ± 92
R	131 ± 11	1570 ± 127	2027 ± 164	439 ± 61	386 ± 54

(LMWP: nizkomolekularni procianidini, HMWP: visokomolekularni procianidini, K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje)

Ker smo pri teh analizah ekstrakcijo izbranih skupin polifenolov izvedli samo pri tem (enem) vzorcu, smo pri podajanju variabilnosti vrednosti posameznih parametrov

uporabili že objavljeno RSD (%) metode za določanje antocianinov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov v kožicah in pečkah grozdnih jagod tako kot je to opisano v podpoglavlju 3.2.6.

Analiza je pokazala trend povečanja antocianinov v kožicah grozdja pri ukrepu zgodnjega razlistanja (2571 mg/kg), tako v primerjavi z ukrepom redčenja grozdja (2027 mg/kg) kot tudi glede na kontrolne trse (1558 mg/kg). Podoben trend smo opazili tudi pri vsebnosti nizkomolekularnih taninov; največ nizkomolekularnih taninov pri ukrepu D (231 mg/kg) in veliko nižje vsebnosti te skupine polifenolov pri kontroli (132 mg/kg) in pri ukrepu redčenja grozdov (131 mg/kg). Vsebnost visokomolekularnih taninov v jagodnih kožicah grozdja R je bila malenkost manjša kot pri grozdju D, oba vzorca grozdja pa sta vsebovala občutno večjo vsebnost teh spojin kot grozdje kontrolnih trt.

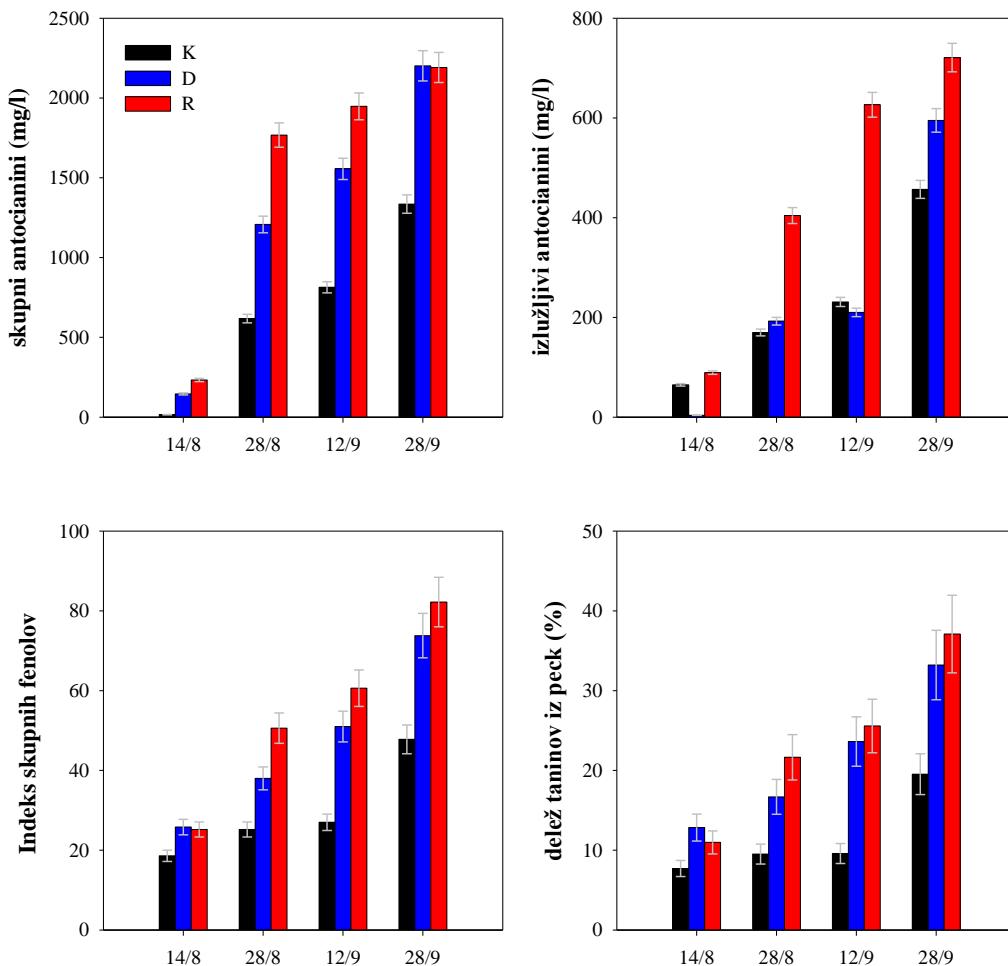
V grozdnih pečkah je bilo največ visokomolekularnih in nizkomolekularnih taninov prav pri ukrepu zgodnjega razlistanja, tako v primerjavi z grozdom ukrepa R kot tudi K.

Pri sorti 'Refošk' je lahko večja vsebnost taninov v grozdju (tako iz kožic kot iz pečk) ključnega pomena, saj je za to vinsko sorto značilna nizka vsebnost taninov, ki lahko poslabša življenjsko dobo vin (Vanzo in sod., 2012).

4.6 Vsebnost fenolov po Glories: skupni antocianini, skupni izlužljivi antocianini, indeks skupnih fenolov in delež taninov iz pečk (%)

Na sliki 14 smo primerjali rezultate vsebnosti skupnih antocianinov, izlužljivih antocianinov, indeksa skupnih fenolov in deleža taninov iz pečk glede na skupne fenole (%) določenih po metodi Glories (1978). Tudi ti rezulati se nanašajo le na en vzorec, sestavljen iz 200 reprezentativnih jagod za posamezno tretiranje (K, D, R). Prikazane napake meritev smo določili na podlagi predhodnega poskusa (neobjavljeni podatki), kjer smo metodo po Glories (1978) uporabili za določanje vsebnosti skupnih antocianinov, vsebnosti izlužljivih antocianinov, indeksa skupnih fenolov in deleža

taninov iz pečk v grozdju sorte ‘Refošk’ letnika 2011 iz 18-ih vinogradov vinorodnega okoliša Kras. Podrobni podatki so prikazani v podpoglavlju 3.2.5.



Slika 13: Parametri določanja fenolov po Glories med dozorevanjem: skupni antocianini (mg/L), izlužljivi antocianini (mg/L), indeks skupnih fenolov in delež taninov iz pečk (%) (K – kontrola, D – razlistanje pred cvetenjem, R – redčenje) (prikazani standardni odkloni so izračunani na podlagi RSD (%) uporabljene metode).

Rezultati kvantifikacije teh parametrov kažejo pozitivne vplive redčenja (ukrep R) in zgodnjega razlistanja (ukrep D) na kakovostne parametre grozdja kot so skupni antocianini, (g/l) izlužljivi antocianini (g/l), skupni fenoli in delež taninov iz pečk (%) v času trgatve. Na vseh štirih grafikonih slike 14 namreč opažamo najmanjše vrednosti vseh teh parametrov prav pri grozdju netretiranih trt (K), tako v času trgatve in v veliki

večini tudi med dozorevanjem. To se lahko pokaže v slabše obarvanih vinih, kar lahko pri vinu Teran štejemo za pomanjkljivost.

Med dozorevanjem (v obdobju med 14.8. in 12.9.) je bila vsebnost skupnih antocianinov pri vzorcu grozdja ukrepa zgodnjega razlistanja vedno nekoliko manjša v primerjavi z vzorcem grozdja ukrepa redčenja grozdja (R). Podobno, čeprav manj izrazito, opažamo tudi pri indeksu skupnih fenolov, medtem ko sta imela ukrepa na dinamiko spremembe deleža taninov iz pečk (%) med dozorevanjem primerljiv vpliv.

V času trgatve so predhodno opažene razlike v vsebnosti skupnih antocianinov in indeksu skupnih fenolov izginile. Navkljub primerljivem trendu vsebnosti skupnih antocianinov ukrepa D in R pri zadnjem vzorčenju, rezultati izlužljivosti antocianinov ne kažejo, da bi bili le-ti enako izlužljivi v mediju pH 3.2. To pomeni, da je pri grozdju sorte 'Refošk' vinogradniška tehnika redčenja grozdja bolje vplivala na izlužljivost antocianinov kot razlistanje pred cvetenjem. Trendi med dozorevanjem kažejo, da je razlika med ukrepoma najbolje vidna prav pri parametru izlužljivi antocianini, katerih vrednost je opazno narastla šele v zadnjih 16 dneh dozorevanja, medtem ko je bila v začetku dozorevanja bolj primerljiva s kontrolnimi trsi.

Iz podatkov o vsebnosti izlužljivih antocianinov bi bilo mogoče tudi sklepati o počasnejšem dozorevanju trsov zgodnjega razlistanja v primerjavi s trsi, kjer smo izvedli redčenje grozdja. Počasnejše dozorevanje je najverjeneje vodilo k opaženim manjšim trendom vsebnosti suhe snovi in celokupnih antocianinov med dozorevanjem. K temu se nagibajo tudi rezultati v Tabeli 5, ki kažejo največji potencial vsebnosti antocianinov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov grozdja prav pri ukrepu razlistanja pred cvetenjem.

Manjšo vsebnost izlužljivih antocianinov med dozorevanjem bi lahko razložili z večjo trdnostjo kožice, ki je posledica počasnejše celične rasti. To bi seveda lažje potrdili z meritvami trdnosti kožice, kar pa nismo izvedli, zato so to lahko le domneve.

5 ZAKLJUČKI

1. Vpliv razlistanja in redčenja grozdja na kakovost grozdja sorte 'Refošk'

Naši rezultati ne kažejo pomembnega vpliva redčenja grozdja in zgodnjega razlistanja na vsebnost skupnih titrabilnih kislin, pH vrednost in maso 100 jagod pri sorti 'Refošk' v času trgatve. Opazili smo pozitivni vpliv redčenja grozdja na vsebnost suhe snovi (vendar le v primerjavi z vplivom zgodnjega razlistanja). Večje vsebnosti suhe snovi so najverjetneje posledica povečanega razmerja med listno površino in maso pridelka in s tem povezanega hitrejšega dozorevanje grozdja pri ukrepu redčenja grozdja.

2. Primerjava vplivov zgodnjega razlistanja in redčenja na količino pridelka sorte 'Refošk' na Krasu

Najlažji grozdi so zrastli na trtah, kjer smo izvedli ampelotehnični ukrep zgodnjega razlistanja. Obremenitve po trsu so bile primerljive pri obeh preizkušenih vinogradniških ukrepih, kar pomeni, da se je v našem poskusu ampelotehnika zgodnjega razlistanja dobro izkazala tudi pri manjšanju mase pridelka po trsu.

Redčenje grozdja je najbolj vplivalo na razmerje med listno površino in maso pridelka in zato je tudi to grozje hitreje dozorevalo, imelo večjo vsebnost suhe snovi in tudi večjo vsebnost izlužljivih antocianinov v času trgatve v primerjavi z grozjem zgodnjega razlistanja.

Primerjava obeh ampelotehničnih ukrepov s kontrolo kaže, da lahko tako z zgodnjim razlistanjem kot tudi z redčenjem grozdja pomembno doprinesemo h kakovosti grozdja sorte 'Refošk' predvsem v količini fenolnih spojin. Kljub temu, da z obema tehnikama zmanjšamo količino pridelka (2,60 kg/trs), je to razmerje še vedno bolj primerno kot pri kontrolnih trsih (4,30 kg/trs), kar pa je prevelika obremenitev, če želimo pridelati kakovostno grozje z veliko vsebnostjo polifenolnih spojin.

3. Vpliv redčenja grozdja in zgodnjega razlistanja na količino fenolnih spojin v grozdju sorte 'Refošk'

Ukrepa razlistanje pred cvetenjem in redčenje grozdja kažeta primerljiv in pozitiven vpliv na vsebnost skupnih antocianinov, indeks skupnih fenolov in delež taninov iz pečk (v %) v času trgatve pri grozdju sorte 'Refošk' letnika 2012 iz vinorodnega okoliša Kras (vinorodna dežela Primorska).

V času trgatve smo največje koncentracije izlužljivih antocianinov določili prav pri ukrepu redčenja grozdja. Nekoliko manjše koncentracije so bile določene pri ukrepu zgodnjega razlistanja, a še vedno bolj ugodne kot pri netretiranih trtah.

Z zgodnjim razlistanjem lahko pridobimo grozde z večjo vsebnostjo antocianinov ter nizkomolekularnih in visokomolekularnih taninov v kožicah (slednji tudi v pečkah) v primerjavi z ampelotehničnim ukrepom redčenja grozdja. Ti tanini so zelo pomembni pri staranju vina, saj podaljšujejo življenjsko dobo vina.

Naši podatki kažejo, da je ampelotehnični ukrep zgodnjega razlistanja zelo priporočljiv za izboljšanje vsebnosti fenolov v grozdju sorte 'Refošk', obenem pa je njegova izvedba verjetno lahko cenejša kot ročno redčenje grozdja, v kolikor razlistanje izvedemo strojno.

6 VIRI

- Bavaresco L., Gatti M., Pezzutto, S. (2008). Effect of leaf removal on grape yield, and berry composition. *American Journal of Viticulture and Enology*, let. 59, št. 3, str. 292-298.
- Bergqvist J., Dokoozlian N. K., Ebisuda N. (2001). Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the central San Joaquin Valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 52, št. 1, 1-7.
- Caspari, H. W.; Lang, A.; Alspach, P., Effects of girdling and leaf removal on fruit set and vegetative growth in grape. *American Journal of Enology and Viticulture* (1998), 49, (4), 359–366.
- Chone X., Van Leeuwen C., Dubourdieu D., Gaudillere J. P. (2001). Stem water potential is a sensitive indicator of grapevine water status. *Annals of Botany*, let. 87, št. 4, str. 477-483
- Chorti E., Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2010) Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 61, št. 1, str. 23–30.
- Deloire A., Ojeda H., Carboneau A., Wand Z. (2004). Determinación y control del estado hídrico de la vid: efectos morfológicos y fisiológicos de la restricción hídrica en vides. *Viticultura/Enología Profesional*, let. 90, str. 27-43.
- Dokoozlian N. K., Kliewer W. M. (1996) Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, let. 121, št. 5, str. 869–874.
- Downey M. O. H., John S., Robinson S. D. (2004). The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes *Australian Journal of Grape and Wine Research*, let. 10, št. 1, str. 55–73.
- Glories Y., (1978) *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse Doctorat d'Etat, Bordeaux: Université Bordeaux II. 195 str.

- Guidoni S., Allara P., Schubert A. (2002). Effect of cluster thinning on berry skin anthocyanin composition of *Vitis vinifera* cv. Nebbiolo. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 53, št. 3, str. 224-226.
- Guidoni S., Ferrandino A., Novello V. (2008) Effects of seasonal and agronomical practices on skin anthocyanin profile of Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 59, št. 1, str. 22–29.
- Halsegrove L., Botting D., van Heeswijck, R., Høj P. B., Dry P. R., Ford C., Iland P. G. (2000) Canopy microclimate and berry composition: the effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. let. 6, št. 1, str. 141-149.
- Jackson D. I., Lombard P. B. (1993). Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality - a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 44, št. 4, str. 409-430.
- Kliewer W. M., Dokoozlian N. K. (2005). Leaf Area/Crop Weight Ratios of Grapevines: Influence on Fruit Composition and Wine Quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 56, št. 2, str. 170-181.
- Mattivi F., Zulian C., Nicolini G., Valenti L. (2002). Wine, biodiversity, technology, and antioxidants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, št. 957, str. 37-56
- Percival D. C., Fisher K. H., Sullivan J. A. (1994) Use of fruit zone leaf removal with *Vitis vinifera* L. cv. Riesling grapevines. II. Effects on fruit composition, yield, and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.). *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 45, št. 2, str. 133–140.
- Plahuta P., Korošec-Koruza Z. (2009) *2x Sto vinskih trt na Slovenskem*. Ljubljana: Prešernova družba.
- Poni S., Casalini L., Bernizzoni F., Civardi S., Interieri C. (2006) Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components and grape composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 57, št. 4., str. 397-407.
- Poni S., Bernizzoni F., Civardi S. (2008). The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. Sangiovese. *Vitis*, let. 47, št. 1, str. 1–6.

Poni S., Bernizzoni F., Civardi S., Libelli, N., (2009). Effects of pre-bloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two red *Vitis vinifera* L. cultivars. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, let. 15, št. 2, str. 185–193.

Refošk (2013), pridobljeno 1.4.2013 s strani <http://www.vino-petric.com/Refosk.html>.

Reynolds A. G., Wardle, D. A. (1989). Effects of Timing and Severity of Summer Hedging on Growth, Yield, Fruit Composition, and Canopy Characteristics of de Chaunac. II. Yield and Fruit Composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 40, št. 4, str. 299-308.

Reynolds A. G., Wardle D. A., Dever M. (1996). Vine Performance, Fruit Composition, and Wine Sensory Attributes of Gewürztraminer in Response to Vineyard Location and Canopy Manipulation. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 47, št. 1, str. 77-92.

Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu. D. (2006). *Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments, Volume 2, 2nd Edition*. Chichester: John Wiley & Sons, Inc., 441 str.

Rigo A., Vianello F., Clementi G., Rosetto, M., Scarpa M., Vrhovsek U. Mattivi F. (2000) Contribution of the proanthocyanidins to the peroxy-radical scavenging capacity of some Italian red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, let. 48, št. 6. str. 1996-2002.

Sivilotti P., Lavrenčič P. (2010) Vpliv obremenitve in termina trgatve na kemijsko sestavo in senzorične lastnosti vina Merlot. V: Čuš F. (ur.). *Vinarski dan 2010, Ljubljana, 17. november 2010*, Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2010, str. 95-106.

Smart R. E. (1985) Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 36, št. 3, str. 230-239.

Spayd S. E., Tarara, J. M., Mee D. L., Ferguson J. C. (2002) Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 53, št. 3, str. 171-182.

- Tardáguila J., Diago, M. P., Martinez de Toda, F., Poni, S., Vilanova M. (2008). Effects of timing of leaf removal on yield, berry maturity, wine composition and sensory properties of cv. Grenache grown under non irrigated conditions. *Journal International de la Science de la Vigne ed du Vin*, let. 42, št. 4, str. 221–229.
- Vanzo A, Šuklje K., Jenko M., Čuš F., Bavčar D., Lisjak K., (2012) Polifenolni potencial terana V: Lisjak K. (ur.). *Bioaktivne spojine terana : zbornik prispevkov simpozija : atti del congresso - pubblicazioni scientifiche*. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, str. 29-50.
- Vršič S., Lešnik M. (2010) Vinogradništvo. Ljubljana: Kmečki glas, 360 str.
- Zoecklein, B. W., Wolf T. K., Duncan, N. W., Judge J. M., Cook, M. K. (1992) Effects of Fruit Zone Leaf Removal on Yield, Fruit Composition, and Fruit Rot Incidence of Chardonnay and White Riesling (*Vitis vinifera L.*) Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, let. 43, št. 2, str. 139–148.